

NASKAH PUBLIKASI

EFEK NEFROPROTEKTIF EKSTRAK DAUN KARAMUNTING (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) TERHADAP NEFROTOKSISITAS YANG DIINDUKSI ASETAMINOFEN



RAHAYU PURWITASARI

NIM I11109006

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2016

**LEMBAR PENGESAHAN
NASKAH PUBLIKASI**

**EFEK NEFROPROTEKTIF EKSTRAK ETANOL 70% DAUN
KARAMUNTING (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.)
TERHADAP TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*) JANTAN
GALUR WISTAR YANG DIINDUKSI ASETAMINOFEN**

TANGGUNG JAWAB YURIDIS MATERIAL PADA

RAHAYU PURWITASARI

NIM 1111090506

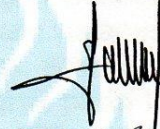
DISETUJUI OLEH

PEMBIMBING PERTAMA



dr. Virhan Novianry, M. Biomed
NIP. 19821129 200801 1 002

PEMBIMBING KEDUA



dr. Sari Eka Pratiwi
NIP. 19870701 201404 2 001

PENGUJI PERTAMA



dr. M. In'am Ilmiawan, M. Biomed
NIP. 19791018 200604 1 002

PENGUJI KEDUA



dr. Sari Rahmayanti
NIP. 19870508 201404 2 001

**MENGETAHUI,
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA**



dr. Arif Wicaksono
NIP. 19831030 200812 1 002

EFEK NEFROPROTEKTIF EKSTRAK DAUN KARAMUNTING (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) TERHADAP NEFROTOKSISITAS YANG DIINDUKSI ASETAMINOFEN

Rahayu Purwitasari¹; Virhan Novianry²; Sari Eka Pratiwi³

Intisari

Latar Belakang: Nefrotoksisitas dapat didefinisikan sebagai penyakit ginjal atau disfungsi yang timbul sebagai akibat langsung atau tidak langsung dari paparan obat-obatan, dan bahan kimia industri atau lingkungan. Salah satu obat yang dapat menyebabkan disfungsi ginjal adalah asetaminofen. Nefrotoksisitas dapat dicegah dengan pemberian obat nefroprotektif. Daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) berpotensi sebagai obat nefroprotektif karena memiliki kandungan senyawa kimia yang bersifat antioksidan. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek nefroprotektif ekstrak daun karamunting terhadap nefrotoksisitas asetaminofen. **Metodologi:** Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Penelitian terhadap tikus Wistar jantan dilakukan selama 15 hari dan dibagi dalam 5 kelompok terdiri atas kelompok kontrol pelarut (CMC 0,5%), kontrol negatif (asetaminofen 750 mg/kgBB pada hari ke 12, 13 dan 14), ekstrak daun karamunting dosis 200, 400 dan 800 mg/kgBB. Tikus dikorbankan pada hari ke-15 untuk dilakukan pemeriksaan ureum serum, kreatinin serum dan mikroskopik ginjal. Data dianalisis menggunakan uji *One Way Anova*. **Hasil:** Terdapat peningkatan kadar ureum dengan kreatinin serum normal serta gambaran nekrosis sel, dilatasi tubulus dan hilangnya *brush border* pada kelompok yang hanya diberi asetaminofen. Kelompok dengan pemberian asetaminofen dan ekstrak karamunting menunjukkan penurunan kadar ureum yang bertahap serta perbaikan struktur histologi ginjal. **Kesimpulan:** Efek nefroprotektif ekstrak etanol 70% daun karamunting ditunjukkan oleh adanya perbaikan nilai kadar ureum serum dan gambaran histologi ginjal meskipun tidak mengembalikan fungsi ginjal secara signifikan terhadap nefrotoksisitas asetaminofen.

Kata kunci: *Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk., asetaminofen, mikroskopik ginjal, aktifitas nefroprotektif

- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
- 2) Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
- 3) Departemen Patobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat

NEPHROPROTECTIVE EFFECT OF KARAMUNTING (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) LEAVES EXTRACT AGAINST ACETAMINOPHEN-INDUCED NEPHROTOXICITY

Rahayu Purwitasari¹; Virhan Novianry²; Sari Eka Pratiwi³

Abstract

Background: Nephrotoxicity can be defined as a kidney disease or disfunction arising directly or indirectly from exposure to drugs and industrial chemicals or the environment. One of the drugs that can cause kidney disfunction is acetaminophen. Nephrotoxicity can be prevented by the giving out nephroprotective medicine. The leaf of karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) has nephroprotective potential as medicine because it contains antioxidant chemical compounds. **Aim:** This study aims to find out the nephroprotective effect of karamunting leaf extract on acetaminophen nephrotoxicity. **Methodology:** Extraction was conducted using maceration method with 70% ethanol. Research on male Wistar rats was conducted over 15 days and divided into five groups consisting of the solvent control group (CMC 0.5%), negative control (750 mg/kgBB of acetaminophen on day 12, 13, 14), karamunting leaf extract at 200, 400 and 800 mg/kgBB. The rats were sacrificed on day 15 for examination of serum urea, serum creatinine and microscopic kidney. The data were analyzed using One Way Anova test. **Results:** There were increased levels of urea and serum creatinine and cell necrosis, tubular dilation and loss of brush border in the group that was given only acetaminophen. The group with the addition of acetaminophen and karamunting extract showed gradual decrease in urea level and the improvement of kidney histological structure. **Conclusion:** Nephroprotective effect of 70% ethanol extract of karamunting leaf is demonstrated by an improvement of serum urea levels and kidney histopathological structure although it didn't restore renal function significantly on acetaminophen-induced nephrotoxicity.

Keywords: *Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk., acetaminophen, microscopic kidney, nephroprotective activity

- 1) Medical Education Program, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Kalimantan.
- 2) Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Kalimantan.
- 3) Department of Pathobiology, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura Pontianak, West Kalimantan.

PENDAHULUAN

Nefrotoksisitas dapat didefinisikan sebagai penyakit ginjal atau disfungsi yang timbul sebagai akibat langsung atau tidak langsung dari paparan obat-obatan, dan bahan kimia industri atau lingkungan. Dengan demikian, nefrotoksisitas obat adalah disfungsi ginjal yang disebabkan oleh obat.¹

Salah satu obat yang dapat menyebabkan disfungsi ginjal adalah asetaminofen. Sifat farmakologi yang ditoleransi dengan baik, sedikit efek samping dan dapat diperoleh tanpa resep membuat obat ini dikenal sebagai antipiretik yang umum di rumah tangga. Alasan tersebut juga menjadikan asetaminofen sebagai salah satu obat yang paling sering menyebabkan kematian akibat keracunan (*self poisoning*).^{2,3}

Toksisitas asetaminofen dapat menyebabkan nefropati analgesik berupa nekrosis tubulus ginjal. Patofisiologi nefrotoksisitas ginjal akibat asetaminofen dihubungkan dengan fungsi campuran isoenzim oksidase sitokrom P-450 pada ginjal. Oksidasi asetaminofen menghasilkan metabolit sekunder berupa N-asetil-p-benzoquinon imin (NAPQI) yang sifatnya toksik. Bila jumlahnya berlebih maka jumlah *glutathione* yang bertugas mereduksi NAPQI turun drastis. Deplesi *glutathione* akan mengarah pada peningkatan level peroksida intraselular dan meningkatkan stress oksidatif lewat mekanisme Fenton. Meskipun nefrotoksisitas lebih jarang ditemukan daripada hepatotoksisitas pada overdosis asetaminofen, kerusakan tubulus ginjal dan gagal ginjal akut dapat terjadi tanpa adanya kerusakan hati dan bahkan dapat menyebabkan kematian pada manusia dan hewan percobaan.^{4,5,6}

Terapi nefrotoksisitas akibat asetaminofen yang sering diberikan adalah N-asetilsistein (NAC) yang merupakan prekursor *glutathione* yang membantu detoksifikasi metabolit sekunder. NAC memiliki peran yang jelas dalam mencegah nekrosis hepar akibat induksi asetaminofen, namun

tidak menunjukkan manfaat dalam mencegah nefropati. NAC yang diberikan per oral maupun intraperitoneal pada tikus yang keracunan asetaminofen tidak dapat melawan nefrotoksitas. Bila nefropati berlanjut menjadi gagal ginjal maka pasien harus menjalani dialisis.⁷

Obat tradisional memberikan banyak kontribusi pada pemeliharaan kesehatan primer untuk jutaan orang. Mereka yang tinggal di daerah pelosok negara-negara berkembang, obat-obatan herbal, pengobatan tradisional dan praktisi kesehatan tradisional memiliki peran utama bahkan terkadang menjadi satu-satunya sumber pengobatan dan pemeliharaan kesehatan.⁸

Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) adalah salah satu tanaman obat yang sering digunakan oleh masyarakat. Tanaman ini termasuk dalam famili Myrtaceae dan mempunyai nama internasional *Rosemyrtle*. Secara tradisional, daun tanaman ini digunakan untuk mengobati luka, kudis, sakit perut, diare, sakit kepala, mencegah infeksi, disentri, dan perdarahan. Sebagai tambahan, ekstrak tanaman ini juga digunakan sebagai formulasi pemutih kulit, anti penuaan, dan agen yang mempercantik kulit.^{9,10,11}

Baik secara in vitro dan in vivo, hasil studi mengindikasikan bahwa ekstrak *Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. dapat berperan sebagai antioksidan yang poten. Antioksidan adalah molekul yang dapat menunda atau mencegah oksidasi dari substrat seluler. Antioksidan natural yang umumnya didapat dari tumbuhan lebih dianjurkan daripada antioksidan sintesis. Karena itu, ekstraknya dianjurkan untuk digunakan sebagai suplemen antioksidan pada produk makanan dan untuk mencegah oksidasi makanan dan juga sebagai antioksidan alternatif di industri farmakologi untuk mencegah kerusakan akibat radikal bebas dari biomolekul yang muncul pada banyak penyakit.¹²

Penelitian tentang daun karamunting di Indonesia masih sangat sedikit terutama sebagai antioksidan dalam mekanisme nefroprotektor. Berdasarkan hal tersebut maka peneliti ingin membuktikan apakah daun karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* [Aiton] Hassk.) dapat mengurangi kerusakan ginjal akibat pemberian asetaminofen dosis toksik.

BAHAN DAN METODE

Alat

Alat yang digunakan adalah oven, bejana maserasi, batang pengaduk, corong, labu Erlenmeyer, *beaker glass*, labu ukur, botol kaca gelap, mikropipet, pipet tetes, tabung reaksi, gelas ukur, *aluminium foil*, plastik *wrap*, wadah plastik, *rotary evaporator*, *water bath*, cawan penguap, timbangan analitik, lumpang, alu, sonde, timbangan hewan uji, spuit, *minor set*, *microtube*, *microsentrifuge*, spektrofotometer, cetakan besi, mikrotom, *hot plate*, *tissue processor*, *object glass*, *cover glass*, kertas label, pot salep, mikroskop.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun karamunting, etanol 70% (teknis), Asetaminofen murni dari PT. Brataco, CMC 0,5%, aquades, kloroform, pereaksi Meyer, magnesium, HCl, FeCl₃ 1%, asam asetat (CH₃COOH) glasial, H₂SO₄, FeCl₃ 5%, kit pemeriksaan biokimia ureum dan kreatinin serum, formalin 10%, zat warna Hematoksin Eosin, *xylol*, alkohol 70%, alkohol 80%, alkohol 90%, alkohol 96%, alkohol absolut, aquades.

Desain Penelitian

Penelitian eksperimental sungguhan (*true experiment*) yang dilakukan secara *in vivo* dengan rancangan penelitian "*posttest-only control group design*".

Pembuatan Simplisia

Daun karamunting yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari Cagar Alam Mandor, Kabupaten Landak. Pengambilan daun dilakukan pada saat matahari bersinar cerah yaitu pada pukul 09.00-12.00 WIB.

Saat itu terjadi proses fotosintesis maksimal pada tanaman. Daun yang diambil adalah daun yang telah membuka sempurna, memiliki penampakan yang sehat, dan tidak terhalang dari sinar matahari. Daun karamunting yang telah dikumpulkan kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang melekat pada sampel. Daun yang telah dicuci bersih kemudian ditiriskan. Setelah itu daun karamunting dipotong kecil-kecil untuk memperbesar luas permukaan dan mempercepat proses pengeringan. Proses pengeringan dilakukan dengan menggunakan oven pengering. Pengeringan dilakukan pada suhu 40°C selama 24 jam. Setelah itu simplisia disimpan.

Pembuatan Ekstrak

Metode ekstraksi yang digunakan yaitu maserasi. Simplisia daun karamunting dimasukkan ke dalam bejana maserasi dan ditambahkan pelarut etanol 70%, direndam selama 2x24 jam (pelarut diganti tiap 24 jam) sambil sesekali diaduk. Maserat yang diperoleh dikumpulkan dan disaring kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary* evaporator dan *waterbath* hingga menjadi ekstrak kental.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik, saponin, steroid, triterpenoid dan tanin.

Pengujian efek nefroprotektif

Sebelum diberi perlakuan, semua tikus diaklimatisasi terlebih dahulu. Aklimatisasi dilakukan selama 21 hari. Pada aklimatisasi dilakukan pemeliharaan tikus di ruang laboratorium farmakologi klinik menggunakan kandang dari bahan plastik yang ditutupi kawat dengan lubang yang cukup jarang sehingga memungkinkan sirkulasi udara yang baik antara kandang dan lingkungan sekitar. Pada masa aklimatisasi, makanan dan minuman diberikan kepada tikus secara *ad libitum*. Setelah masa aklimatisasi selesai, selanjutnya dilakukan randomisasi. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok dengan anggota 6 ekor per kelompok.

Pengujian efek nefroprotektif ekstrak etanol 70% daun karamunting dilakukan terhadap tikus (*Rattus norvegicus*) jantan galur Wistar yang dibagi ke dalam 5 kelompok, yaitu kelompok kontrol pelarut (CMC 0,5%), kontrol negatif (parasetamol 750 mg/kgBB pada hari ke-12, 13 dan 14), ekstrak daun karamunting dosis I (200 mg/kgBB), ekstrak daun karamunting dosis II 400 mg/kgBB dan ekstrak daun karamunting dosis III 800 mg/kgBB. Semua bahan diberikan secara oral dalam bentuk sediaan suspensi menggunakan CMC 0,5%.

Penelitian dilakukan selama 15 hari. Hewan uji dieuthanasia pada hari ke-15 dengan dislokasi leher. Darah untuk pemeriksaan biokimia (ureum dan kreatinin serum) diambil dari jantung, disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 15 menit untuk diambil serumnya, kemudian diperiksa dengan metode spektrofotometri. Organ ginjal diambil dan dimasukkan ke dalam formalin 10%, dibuat menjadi preparat dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin, diamati dengan mikroskop pada perbesaran 400x.

Metode pengamatan preparat berdasarkan penelitian Sadis *et al.* (2007) sebagai berikut.¹³

Tabel 1. Kriteria Skoring Tingkat Kerusakan Ginjal

| Persentase kerusakan | Tingkat kerusakan |
|----------------------|-------------------|
| 0% | 0 |
| 1-10% | 1 |
| 11-25% | 2 |
| 26-50% | 3 |
| 51-75% | 4 |
| >75% | 5 |

Pemeriksaan dilakukan pada 100 tubulus tiap sediaan. Hasil pemeriksaan biokimia berupa kadar ureum dan kreatinin serum serta pemeriksaan mikroskopik berupa tingkat kerusakan ginjal dianalisis dengan uji *One Way Anova* yang dilanjutkan dengan uji *Post Hoc* jika terdapat perbedaan bermakna antar kelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pemeriksaan Kadar Ureum dan Kreatinin

Hasil pemeriksaan kadar ureum dan kreatinin serum dapat dilihat pada tabel 2.

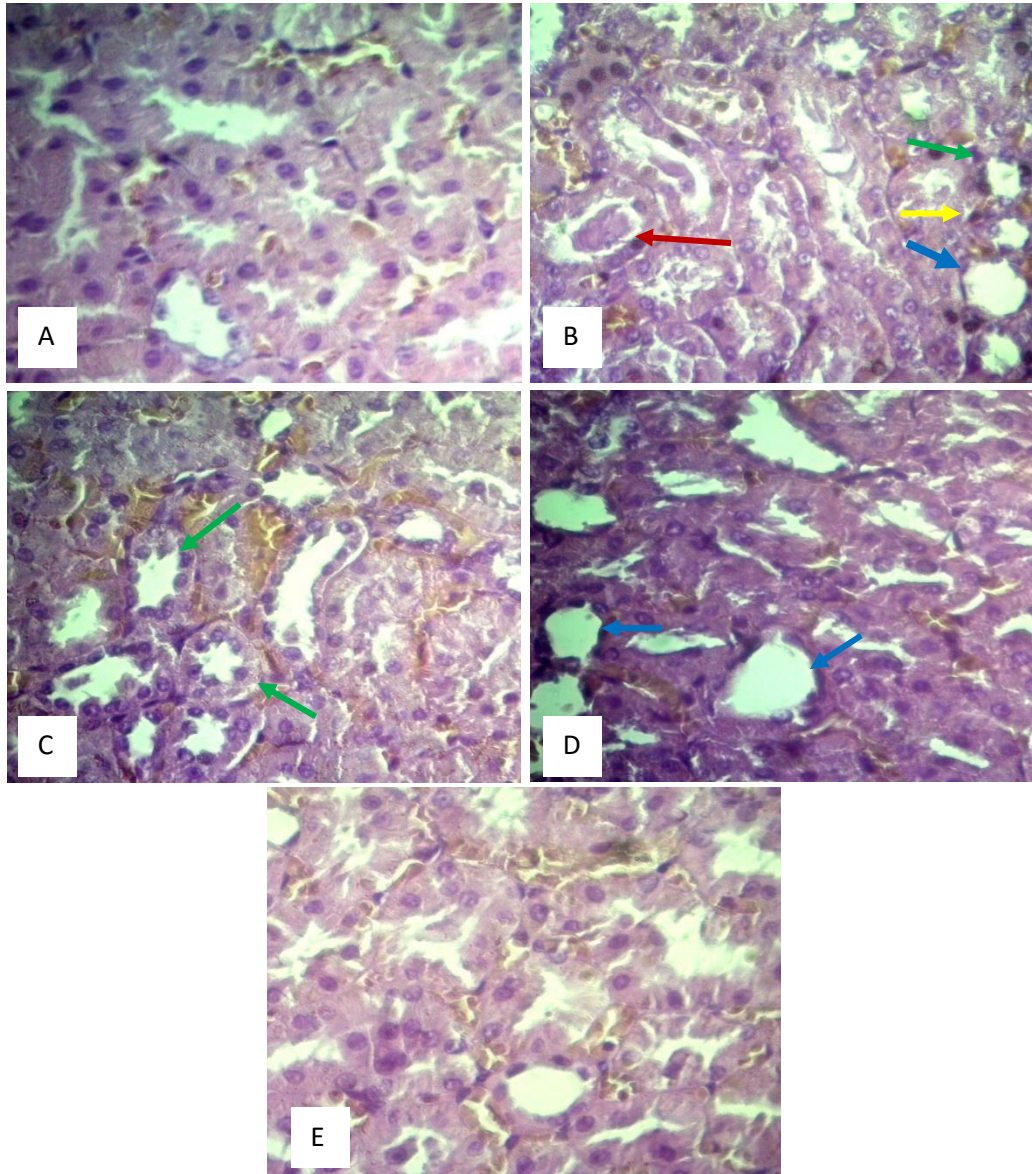
Tabel 2. Rataan kadar ureum dan kreatinin semua kelompok perlakuan

| Kelompok | Ureum (mg/dL) | Kreatinin (mg/dL) |
|-------------------------------------|-------------------------|------------------------|
| Kontrol (CMC 0.5%) | 20,20±1,92 | 0,56±0,09 |
| Kontrol Asetaminofen | 27,60±3,36 ^b | 0,60±0,07 ^c |
| Dosis 1 Ekstrak RT (200 mg/kgBB) | 28,40±5,50 ^b | 0,62±0,08 ^c |
| Dosis 2 Ekstrak RT (400 mg/kgBB) | 25,40±3,85 ^a | 0,58±0,08 ^c |
| Dosis 3 Ekstrak RT (800 mg/kgBB) | 24,60±4,39 ^a | 0,66±0,09 ^c |

Keterangan: Kadar ureum dan kreatinin rata-rata (*mean*) ± standar deviasi (SD) (n=5). Nilai pada kolom yang sama diikuti huruf *superskrip* (a) menunjukkan tidak berbeda nyata (*Post Hoc-LSD*, $p>0,05$), huruf *superskrip* (b) menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kelompok (*Post Hoc-LSD*, $p<0,05$), dan huruf *superskrip* (c) menunjukkan tidak berbeda nyata (*Kruskal-Wallis*, $p>0,05$)

Hasil Pemeriksaan Mikroskopik Ginjal

Berikut adalah gambaran mikroskopik masing-masing kelompok perlakuan.



Gambar 1. Fotomikrograf ginjal tikus (hematoksilin dan eosin, 400x) dari (A) kelompok kontrol menunjukkan histologi ginjal normal; (B) kelompok induksi APAP menunjukkan adanya nekrosis sel (panah kuning), dilatasi tubulus (panah biru), hilangnya *brush border* (panah hijau), dan pembentukan *cast* (panah merah); (C) kelompok dosis 1 memperlihatkan perbaikan struktur histologi meski masih dijumpai tubulus dengan *brush border* yang hilang (panah hijau); (D) kelompok dosis 2 memperlihatkan peningkatan struktur histology meski masih dijumpai dilatasi tubulus (panah biru); (E) kelompok dosis 3 memperlihatkan gambaran histologi yang normal, mirip dengan gambaran histologi pada kontrol normal.

Data hasil pengamatan preparat ginjal yaitu perhitungan jumlah tubulus yang rusak dalam pembacaan 100 tubulus proksimal.

Tabel 3. Rataan jumlah kerusakan tubulus dan tingkat kerusakan semua kelompok perlakuan

| Kelompok | Kerusakan Tubulus (per 100 tubulus) | Tingkat Kerusakan |
|-------------------------------------|--|-------------------|
| Kontrol (CMC 0.5%) | 31,80±4,44 | 3 |
| Kontrol Asetaminofen | 34,20±9,01 ^a | 3 |
| Dosis 1 Ekstrak RT (200 mg/kgBB) | 30,80±7,33 ^a | 3 |
| Dosis 2 Ekstrak RT (400 mg/kgBB) | 34,00±4,30 ^a | 3 |
| Dosis 3 Ekstrak RT (800 mg/kgBB) | 24,40±3,97 ^a | 2 |

Keterangan: Kerusakan tubulus rata-rata (*mean*) ± standar deviasi (SD) (n=5). Nilai pada kolom yang sama diikuti huruf *superskrip* (a) menunjukkan tidak berbeda nyata ($p>0,05$), dan huruf *superskrip* (b) menunjukkan adanya perbedaan nyata antar kelompok ($p<0,05$).

Pembahasan

Terdapat peningkatan kadar ureum yang bermakna pada kelompok kontrol induksi asetaminofen. Hal ini terjadi karena tikus pada kelompok tersebut diinduksi asetaminofen yang memiliki korelasi yang kuat dengan nefrotoksisitas dan stres oksidatif. Karadeniz et al. (2008) dan Ajami et al. (2010) menjelaskan bahwa peningkatan produksi H_2O_2 dan O_2 mengubah area permukaan filtrasi dan memodifikasi koefisien filtrasi; kedua faktor tersebut dapat menurunkan filtrasi glomerular yang mengarah pada akumulasi urea dalam darah.^{14,15}

Pada dosis terapi, sekitar 63% asetaminofen dimetabolisme melalui glikoronidasi dan 34% dengan sulfas. Reaksi fase II ini terjadi di hepar dan menghasilkan metabolit larut air yang diekskresikan lewat ginjal. Kurang dari 5% APAP dioksidasi menjadi NAPQI oleh enzim sitokrom P-450. NAPQI direduksi oleh GSH dan diekskresikan sebagai asam merkapturat. Penelitian terakhir menunjukkan bahwa pemberian asetaminofen

mengakibatkan penurunan signifikan antioksidan endogen seperti SOD (*cytosolic superoxide dismutase*) dan CAT (*cytosolic catalase*) sehingga aktifitasnya hilang dan terakumulasinya radikal superoksida yang merusak ginjal. SOD dan CAT adalah enzim terpenting yang berpengaruh dalam perbaikan efek dari metabolisme oksigen.^{7,16}

Overdosis parasetamol menyebabkan deplesi GSH karena peningkatan produksi metabolit yang merupakan senyawa toksik.⁷ Karena sistem enzim pada hepar juga terdapat pada ginjal, kemungkinan terbesar bahwa NAPQI juga akan terbentuk dalam ginjal, menambah peningkatan toksisitas meskipun lebih lambat dari hepar.¹⁷

Disfungsi mitokondria ditemukan pada toksisitas asetaminofen. Mekanisme yang paling mungkin adalah *mitochondrial permeability transition* (MPT). Oksidan seperti peroksida dan Ca^{++} menyebabkan terjadinya MPT. MPT memperlihatkan peningkatan permeabilitas dari membran dalam mitokondria terhadap ion-ion dan molekul kecil yang terlarut. Perubahan permeabilitas ini berasosiasi dengan depolarisasi membran dalam mitokondria, fosforilasi oksidatif yang tidak berpasangan, pelepasan ion-ion intramitokondria dan metabolik intermediet, pembengkakan mitokondria dan penurunan sintesis ATP. MPT yang disebabkan oleh stres oksidatif kemudian menjadi penyebab meningkatnya ROS dan RNS yang juga merupakan stres oksidatif.¹⁸

Tumor necrosis factor- α (TNF- α) adalah satu dari sitokin proinflamasi yang terpenting yang dapat menyebabkan peningkatan ROS dan RNS dan dikenal dalam mengaktivasi sel inflamasi yang lain. Mencit yang diberi asetaminofen menunjukkan peningkatan TNF- α dan IL-1 α . Peningkatan ini menjelaskan induksi kerusakan ginjal lewat jalur stres oksidatif.¹⁸

Meskipun kadar ureum pada kelompok dosis 1 adalah yang tertinggi, namun secara statistik tidak terdapat perbedaan bermakna dengan kadar ureum kelompok induksi APAP. Hal ini menandakan toksisitas APAP juga terjadi pada kelompok dosis 1. Toksisitas akut APAP mengakibatkan ditemukannya protein dalam urin. Hal ini mungkin dikarenakan adanya

disfungsi pada tubulus ginjal mengingat glukosa dan protein diabsorpsi sempurna pada tubulus kontortus proksimal dalam keadaan normal. Hal ini sesuai dengan penelitian Abdel-Zaher et al (2008) yang menyebutkan bahwa nefrotoksisitas yang diinduksi overdosis parasetamol dikarakteristikan dengan kerusakan dan nekrosis pada tubulus kontortus proksimal.¹⁹

Secara statistik, tidak ditemukan perbedaan bermakna antara kelompok dosis 2 dan dosis 3 dengan kelompok lainnya ($p>0,05$). Meskipun demikian, dapat diamati adanya penurunan kadar ureum serum tikus yang bertahap, dengan kadar serum ureum kelompok dosis 3 paling mendekati dengan kadar ureum serum kelompok kontrol normal. Hal ini menunjukkan adanya efek proteksi dari ekstrak daun karamunting terhadap ginjal.

Kreatinin merupakan metabolit keratin yang diekskresikan seluruhnya ke dalam urin melalui filtrasi glomerulus. Peningkatan kadar kreatinin dalam darah dan jumlah kreatinin dalam urin dapat digunakan untuk memperkirakan laju filtrasi glomerulus.²⁰ Konsentrasi ureum serum sering dianggap sebagai prediktor fungsi renal yang lebih reliabel dibanding serum kreatinin.²⁰

Secara statistik tidak terdapat perbedaan kadar kreatinin serum yang bermakna antar kelompok perlakuan ($p>0,05$). Hal ini diduga berkorelasi dengan rendahnya tingkat kerusakan tubulus proksimal akibat induksi parasetamol, sehingga NAPQI dan *para-aminophenol* yang terbentuk tidak menghabiskan cadangan GSH di sitoplasma dan mitokondria tubulus proksimal yang akan meningkatkan kadar kreatinin sebagai tanda kerusakan ginjal yang parah. *Para-aminophenol* adalah sebuah nefritoksin poten yang selektif merusak tubulus proksimal sebagai hasil asetilasi parasetamol secara enzimatis akan menyebabkan nekrosis pada kumparan tubulus proksimal tikus setelah injeksi dosis tunggal pada tikus, sedangkan pada penelitian ini pemberian APAP diberikan per oral sehingga mempengaruhi kadar *para-aminophenol* yang terbentuk.²¹

NAPQI mungkin telah di reduksi sebagian besar oleh GSH hepar sehingga NAPQI yang bebas beredar dalam darah dan sampai ke ginjal jumlahnya tidak cukup untuk merusak ginjal.

Terlihat hasil yang berbeda antara kadar ureum serum dan kreatinin serum. Ureum serum merupakan penanda kerusakan ginjal yang lebih sensitif, sehingga perubahan kecil pada kondisi ginjal baik itu dari fungsi filtrasi maupun fungsi reabsorpsi akan menyebabkan perubahan pula pada kadar ureum serum. Sedangkan kadar kreatinin serum lebih stabil daripada ureum serum, sehingga adanya perubahan pada kadar kreatinin serum mengindikasikan kerusakan yang spesifik pada tubulus ginjal.

Gambaran histologi pada penelitian ini secara statistik tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan dan kontrol. Kerusakan tertinggi sebesar $34,20 \pm 9,01\%$ terjadi pada kelompok induksi APAP, sedangkan yang terendah sebesar $24,40 \pm 3,97\%$ pada kelompok dosis 3. Pada kelompok kontrol normal secara umum menunjukkan gambaran histologi korteks ginjal yang normal. Terlihat tubulus kontortus proksimal yang tersusun atas sel kuboid selapis dengan lumen yang sempit. Sel epitel menunjukkan batas yang jelas, nukleus yang bundar dan *apical brush border*.²²

Sedangkan pada kelompok induksi APAP, gambaran histologi korteks ginjal yang ditunjukkan memperlihatkan distorsi tubular dengan lumen yang melebar. Tanda-tanda nekrosis dalam bentuk degenerasi epitelial, vakuolisasi dan nukleus yang piknosis. Hilangnya secara total *brush border* juga dapat diamati dalam gambaran histologi kelompok ini. *Hyalin cast*, deskuamasi sel dan debris nekrosis sel terlihat pada lumen beberapa tubulus. Batas sel epitel beberapa tubulus kehilangan susunannya yang normal.²²

Pada kelompok dosis 1 dan dosis 2 terlihat gambaran perbaikan struktur histologi korteks ginjal. Secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan antara jumlah kerusakan tubulus kelompok ini dengan kelompok induksi asetaminofen ($p > 0,05$). Tidak ditemukan adanya nekrosis tubulus,

meskipun dilatasi tubulus dan tubulus dengan *brush border* yang hilang masih dapat diamati. Hal ini menunjukkan efek perlindungan yang ringan dari administrasi ekstrak karamunting terhadap induksi APAP.

Meskipun secara statistik tidak ada perbedaan yang signifikan antara kerusakan tubulus dari kelompok dosis 3 dengan kelompok induksi APAP, terlihat bahwa rata-rata kerusakan tubulus terendah ditunjukkan oleh kelompok dosis 3. Tingkat kerusakan tubulus juga berkurang, dibandingkan dengan keempat kelompok lainnya yang tingkat kerusakan tubulusnya adalah 3, kelompok ini memperlihatkan tingkat kerusakan tubulus lebih rendah, yaitu tingkat 2. Sedangkan gambaran histologi korteks ginjal yang terlihat hampir sama dengan kelompok kontrol. Sedikit sekali kerusakan tubulus yang dapat diamati.

Hasil skrining fitokimia memperlihatkan bahwa ekstrak etanol 70% daun karamunting mengandung senyawa flavonoid, fenolik, saponin, terpenoid dan tanin. Satu atau lebih dari senyawa tersebut mungkin bertindak sebagai antioksidan dalam melindungi ginjal dari nefrotoksisitas APAP. Polifenol mungkin menghalangi mekanisme sitotoksifitas oksidatif dengan demikian menyediakan efek protektif dalam ginjal untuk melawan berbagai tantangan oksidatif.²³ Flavonoid secara termodinamikal mampu mengurangi sebagian besar radikal bebas seperti superoksida, peroksil, alkoksil dan radikal hidroksil. *ROS-scavenging potential* dari flavonoid berhubungan dengan stabilitas spesies radikal mereka.²⁴ Flavonoid dioksidasi oleh radikal, menghasilkan radikal yang lebih stabil dan kurang reaktif. Dengan kata lain, flavonoid menstabilisasi ROS dengan reaksinya pada senyawa reaktif radikal. Pemberian oral dari fraksi flavonoid murni dilaporkan menurunkan jumlah imobilisasi leukosit selama reperfusi. Hal ini mungkin berhubungan dengan penurunan serum komplemen total dan merupakan sebuah mekanisme perlindungan melawan kondisi seperti inflamasi. Beberapa flavonoid dapat menghambat degranulasi neutrofil tanpa mempengaruhi produksi superoksida.²⁵

Dari hasil penelitian John Raphael T (2006) pemberian terpenoid meningkatkan kadar GSH dalam intestinal begitu pula dalam hepar pada tikus yang diinduksi CTX (siklofosamid).²⁶ Sedangkan tanin mampu menghambat pembentukan oksigen aktif yang dapat menyebabkan oksidasi. Baik gallotanin maupun ellagitanin, merupakan senyawa antioksidan yang cukup berpotensi. Aktivitas antioksidatif tanin antara lain lewat penghambatan autooksidasi asam askorbat yang dikatalisis oleh ion Cu^+ , penghambatan autooksidasi metillinoleat dan peroksidasi lipid di mitokondria dan mikrosom hepar tikus, serta reduksi kandungan lipid peroksida dalam serum dan hepar tikus.²⁷

Menurut penelitian Geetha et al., (2010) kadar SOD dan CAT meningkat pada jaringan glandular tikus yang diberi ekstrak etanol 70% daun karamunting mengindikasikan efek perlindungan terhadap ulkus lambung yang diinduksi asam asetat.²⁸ Lavanya et al., (2012) melaporkan bahwa pemberian ekstrak daun karamunting selama 14 hari pada tikus mengembalikan kadar GSH dalam darah, hepar, dan ginjal sampel tikus yang diinduksi CCl_4 . Kadar SOD, CAT dan GSH yang stabil dalam tubuh menjelaskan efek protektif terhadap metabolit reaktif yang dihasilkan oleh toksisitas APAP.¹²

Baik secara in vitro maupun in vivo hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak karamunting dapat berperan sebagai antioksidan poten. Hal ini dilaporkan karena kandungan antioksidan dalam tanaman ini.¹²

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Efek nefroprotektif ekstrak etanol 70% daun karamunting ditunjukkan oleh adanya perbaikan nilai kadar ureum serum dan gambaran histopatologi ginjal meskipun tidak mengembalikan fungsi ginjal secara signifikan terhadap nefrotoksisitas asetaminofen.

Saran

1. Penelitian yang serupa perlu dilakukan dengan menambah variasi dosis ekstrak daun karamunting sehingga didapatkan dosis efektif yang dapat memberikan efek nefroprotektif.
2. Dilakukan penelitian kuantitatif untuk mengetahui kadar metabolit dalam ekstrak etanol daun karamunting.
3. Dapat dilakukan penelitian efek nefroprotektif dengan menggunakan bagian lain dari tanaman karamunting, misalnya buah karamunting.

DAFTAR PUSTAKA

1. I.E, Asagansi; A. O, Oshin; A.O, Akinloye., 2005, Drug Nephrotoxicity, *Ifemed Journal of Medicine*.
2. Goodman, L.S; Gilman, A., 2008, Dasar Farmakologi Terapi, Hardman K. G; Limbird L.E; Aisyah C. (eds), Edisi 10, EGC, Jakarta.
3. Neal M. J., 2006, At a Glance Farmakologi Medis, Edisi 5, Erlangga, Jakarta.
4. Kumar, Vinay; Cotran, Ramzi S; Robbins, Stanley L., 2007, Buku Ajar Patologi Robbins, Pendit, Brahm (alih bahasa), Hartanto, Huriawati; Darmaniah, Nurwani; Wulandari, Nanda (eds), Edisi 7, Volume 2, EGC, Jakarta.
5. Katzung, Bertram G., 2011, Farmakologi Dasar dan Klinik, Nugroho, A.W; Rendy, Leo; Dwijayanthi, Linda (alih bahasa), Nirmala, W.K; Yesdelita, Nella; Susanto, Diana; Dany, Frans (eds), Edisi 10, EGC, Jakarta.
6. Wilmana G.M; Gunawan S.G., 2007. Analgesik-Antipiretik Analgesik Anti-Inflamasi Nonsteroid dan Obat Gangguan Sendi Lainnya Dalam: Farmakologi dan Terapi, Edisi 5, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.
7. Mazer, Maryann; Perrone, Jeanmarie., 2008, Acetaminofen-Induced Nephrotoxicity: Patophysiology, Clinical Manifestations, and Management, *Journal of Medical Toxicology*, Volume 4, 1:2-6.
8. World Health Organization (WHO), 2015, WHO Director-General addresses traditional medicine forum, <http://www.who.int/dg/speeches/2015/traditional-medicine/en/>, (diakses 2 Agustus 2016).
9. Fahmi, Rizal et al., 2012, Pengembangan Potensi Rhodomyrtone sebagai Bahan Aktif Sediaan Topikal, *Jurnal Farmasi Indonesia*., 6:1-2.
10. Wei, F., 2006, Manufacture of Oral Liquid Containing Traditional Chinese Medicine Extract for Treating Gynecopathy, Guangxi Huahong Pharmaceutical Industry, Beijing, Cina.
11. Miyake, Y; Nijima, J., 2006, Skin Cosmetic and Food/Drink for Cosmetogical Use, Maruzen Pharmaceutical, Hiroshima, Jepang.
12. Lavanya, G; Voravuthikunchai, S P; Towatana, N H., 2012, Acetone Extract from *Rhodomyrtus tomentosa*: A Potent Natural Antioxidant, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 10:1-8.
13. Sadis, Claude et al, 2007, Nicotin Protects Kidney from Renal Ischemia/Reperfusion Injury through the Cholinergic Anti-Inflammatory Pathway, *PLoS One*, 2(5):e469.
14. Ajami, M et.al., 2010, Effect of Crocus Sativus on Gentamicin Induced Nephrotoxicity, *Biol Res.*, 43:83-90.
15. Karadeniz, A et.al., 2008, Spirulinaplatensis Protects Against Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats, *Phytother.Res*, 22:1506-1510.
16. Manov, L; Hirsh, M dan Ianccu, T.C., 2003, Acetaminophen Hepatotoxicity and Mechanism of Its Protection by N-acetylcysteine: a study of Hep 3B cells. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 53:489-500.

17. Roberts, D. dan Buckley, N., 2007, Pharmacokinetic Considerations in Clinical Toxicology. *Clinical Applications. Clin. Pharmacokinet*, Volume 46, 11:897-939.
18. Hinson, Jack A; Robert, Dean W; James, Laura P., 2010, Mechanisms of Acetaminofen-Induced Liver Necrosis, *Handb Exp Pharmacol*, 196:369-405.
19. Abdel Zaher, A et al., 2008, The Potential Protective Role of Alpha-Lipoic Acid Against Acetaminophen-Induced Hepatic and Renal Damage, *Toxicol*, 243(3):261-70.
20. Wientarsih, Ietje et. al., 2012, Gambaran Serum Ureum, dan Kreatinin pada Tikus Putih yang Diberi Fraksi Etil Asetal Daun Alpukat, *Jurnal Veteriner*, Volume 13, 1: 57-62.
21. Ismantoro et. al., 2013, Efek Nefroprotektif Teripang Emas (*Stichopus Variegatus*) Pada Tikus Jantan Dewasa Galur Wistar Yang Diinduksi Parasetamol Dosis Toksik, *Makalah Kedokteran Sriwijaya*, Volume 45, 1:52-58.
22. Refaat, Seham H dan Mady, Awatef A., 2008, Vitamin A Againsts the Acetaminophen-Induced Toxicity in the Renal Cortex of Albino Rats, *Egypt J. Histol*, Volume 31, 21: 321-331.
23. Singh, Devinder et al., 2006, Mini Review: Antioxidants in The Prevention of Renal Desease, *Journal of Medicinal Food*, 4:443-450.
24. Han, Rui-Min; Zhang, Jian-Ping dan Skibsted, Leif H., 2012, Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids as Antioxidants, *Molecules*, 17:2140-2160.
25. Nijveldt, Robert et al., 2001, Flavonoids: A Review of Probable Mechanism of Action and Potential Applications, *Am J Clin Nutr*, 74:418-25.
26. Raphael T, John, 2006, Investigations on Immunomodulatory and Antimetastatic Activity of Natural Terpenoids and Their Usefulness in Cancer Therapy, Amala Cancer Research Centre, University of Calicut.
27. Hernawan, Udhi Eko dan Setyawan, Ahmad Dwi., 2003, Review: Ellagitanin; Biosintesis, Isolasi, dan Aktivitas Biologi, *Biofarmasi* Volume 1, 1: 25-38.
28. K.M. Geetha; C. Sridhar; V, Murugan., 2010, Antioxidant and Healing Effect of Aqueous Alcoholic Extract of *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk on Chronic Gastric Ulcer in Rats, *Journal of Pharmacy Research*, Volume 3, 12:2860-2862.

Lampiran

Surat Keterangan Lolos Kaji Etik



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS TANJUNGPURA
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi Pontianak 78124
Telp (0561) 765342, 583865, 732500 Fax (0561) 765342, 583865, 732500 Kotak Pos 1049
E-mail : kedokteran@untan.ac.id website : <http://www.kedokteran.untan.ac.id>

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK (ETHICAL – CLEARANCE)

No : 3926 /UN22.9/DT/2016

Divisi Kaji Etik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dalam upaya melindungi kesejahteraan hewan coba subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian berjudul:


Ethical Clearance Division of the Faculty of Medicine University of Tanjungpura, with regards of the animal welfare in medical and health research, has carefully reviewed the proposal entitled:

Efek Nefroprotektif Ekstrak Etano 70% Daun Karamunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk) terhadap Tikus Putih (*Rattus novergicus*) Jantan Galur Wistar yang Diinduksi Asetaminofen

| | |
|--|--|
| Peneliti utama (<i>Principal Researcher</i>) | : Rahayu Purwitasari |
| Nama institusi (<i>Institution</i>) | : Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Untan |

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut di atas.
and approved the mentioned proposal.

Pontianak, 24 Mei 2016
Ketua (*Chairman*),


Agus Fitriangga, SKM, MKM
NIP. 1979 0826 2008 12 1003

*Keterangan Lolos Etik (*Ethical-clearance*) berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan